

## بررسی اثر متقابل سدیم نیتروپروساید (SNP) و مس بر برخی از پارامترهای رشد و فیزیولوژی گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.)

محمدعلی رئیسی<sup>۱</sup>، زهرا اسرار<sup>۱</sup>، شهرام پورسیدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

<sup>۲</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

### چکیده

مس یک ریز مغذی ضروری برای گیاه است، به گونه‌ای که کمبود آن متابولیسم گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مقدار زیاد مس باعث ایجاد سمیت در گیاه از طریق ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. از طرفی Sodium Nitroprusside (SNP) می‌تواند سلول‌ها را در مقابل آسیب اکسیداتیو ناشی از تولید رادیکال‌های اکسیژن حفاظت کند. این پژوهش به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف SNP (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) بر رشد و مورفولوژی گیاه شاهی تحت تأثیر سطوح مختلف فلز مس (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) صورت گرفت. نتایج نشان داد که تیمار SNP باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، افزایش محتوای کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش مس می‌شود. همچنین تیمار SNP موجب کاهش معنی‌دار آلدئیدهای اندام هوایی در تمامی غلظت‌های سمی مس و کاهش مالون دآلدئید اندام هوایی و ریشه و سایر آلدئیدهای ریشه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار مس شد. نتایج نشان داد که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار SNP اثر مطلوبی بر بهبود تنش فلز سنگین مس در گیاه شاهی دارد.

**واژه‌های کلیدی:** رنگیزه‌های فتوسنتزی، سدیم نیتروپروساید، شاهی، مس، نیتریک اکسید

### مقدمه

مس (Cu) عنصری کم مصرف، اما ضروری برای همه گیاهان آلی است (Berglund *et al.*, 2000; Patsikka *et al.*, 2002) که دارای نقش‌های متابولیک فراوانی در گیاه است. زمانی که غلظت آن در خاک از سطح بسیار اندک تجاوز کند، به شدت سمی می‌شود (Berglund *et al.*, 2000). میزان سمیت مس

مس (Cu) عنصری کم مصرف، اما ضروری برای همه گیاهان آلی است (Berglund *et al.*, 2000; Patsikka *et al.*, 2002) که دارای نقش‌های متابولیک فراوانی در گیاه است. زمانی که غلظت آن در خاک از سطح بسیار اندک تجاوز کند، به شدت سمی می‌شود (Berglund *et al.*, 2000).

(NADPH, NADH) است. نیتریک اکسید در گیاهان توسط مسیرهای آنزیمی و غیر آنزیمی تولید می‌شود (Wieczorek *et al.*, 2006).

تأثیرات گوناگون این ترکیب مربوط به توانایی واکنش شیمیایی با دی اکسیژن، آهن و پروتئین‌های حاوی تیول است (Wendehenne *et al.*, 2001).

در شرایط تنش، تولید فزاینده NO در اندام‌های گوناگون گیاه دیده شده است. اثر حفاظتی یا سمی NO در متابولیسم گیاه مربوط به غلظت مولکول، سنتز، انتقال و کارایی برداشت آن است. این ترکیب در تحریک جوانه‌زنی دانه، تقسیم سلول، افزایش میزان کلروفیل و بسیاری از اعمال دیگر سلول دخالت داشته، با واکنش با گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب ناشی از آنها را کاهش می‌دهد (Beligni and Lamattina, 2001).

با توجه به تأثیرات زیان بار غلظت بالای مس بر فرآیندهای فیزیولوژیک و نمو گیاهی و کاربرد گسترده نیتریک اکسید به عنوان یک آنتی اکسیدان مؤثر و تأثیرات مطلوب آن در کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان، به این جمع‌بندی رسیدیم که تأثیر SNP در جوانه‌زنی، رشد، ایجاد مقاومت به سمیت مس در گیاه شاهی و چگونگی ایجاد این تأثیرات را بررسی کنیم.

## مواد و روش‌ها

**آزمایش جوانه‌زنی:** در این مرحله، ۲۰ عدد بذر سالم در هر پتری به قطر ده سانتی‌متر حاوی کاغذ واتمن خیس شده با آب مقطر قرار داده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تیمار سولفات مس و SNP به

بسته به نوع گیاه و غلظت بحرانی آن متفاوت است (Sheldon and Menzies, 2004). برای اکثر گونه‌های موجود سطح بحرانی سمیت مس در برگ‌ها بیش از ۲۰ - ۳۰ میکرو گرم بر گرم وزن خشک است (Chaignon and Hingsinger, 2003; Sossé *et al.*, 2004).

نیتریک اکسید یک مولکول فعال زیستی است که فعالیت‌های متنوعی را در سیستم‌های زنده اعمال می‌کند. در پستانداران به عنوان یک پیامبر اصلی در قلب و عروق، سیستم ایمنی و عصبی شناخته شده و نقش‌های تنظیمی، سیگنالی، حفاظتی و سمی را در سلول اعمال می‌کند (Beligni and Lamattina, 2001; Wang *et al.*, 2006). NO یک مولکول گازی لیپوفیل (lipophilic gas) بدون بار (Bartha *et al.*, 2005) و یک گونه واکنش‌پذیر نیتروژن محسوب می‌شود (Beligni and Lamattina, 2001). وضعیت شیمیایی NO به اثر متقابل سه گونه ردوکس اشاره دارد: رادیکال نیتریک اکسید (NO<sup>•</sup>)، کاتیون نیتروزونیوم (NO<sup>+</sup>) و آنیون نیتروکسیل (NO<sup>-</sup>). در کل رادیکال NO<sup>•</sup> به شدت مستعد اکسیداسیون و احیاء است (Wendehenne *et al.*, 2001). بسیاری از اعمال تأثیرگذار NO مربوط به میل ترکیبی شدید آن به Fe است، مانند اثر روی پروتئین‌های تنظیمی آهن (Watts *et al.*, 2003).

سدیم نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید است که در حالت محلول به شدت به نور حساس بوده، تجزیه آن توسط اکسیژن و دمای زیاد تسریع می‌شود (Wieczorek *et al.*, 2006). رهاسازی NO از دهنده، نیازمند تابش نور یا احیای آن توسط عوامل کاهنده، مثل: اسید آسکوربیک، تیول‌ها و هموپروتئین‌ها، مانند

**سنجش میزان رنگیزه‌های فتوستتزی کلروفیل و کاروتنوئید**  
برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) استفاده شد.

#### سنجش مقدار پراکسیداسیون چربی‌ها

برای این منظور غلظت مالون‌دآلدئید و سایر آلدئیدها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری غلظت مالون‌دآلدئید (MDA) به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) و برای اندازه‌گیری سایر آلدئیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال) از روش Meir و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد.

#### تعیین میزان یون مس در اندام هوایی و ریشه

به منظور، اندازه‌گیری یون مس از روش جذب اتمی استفاده شد. پس از مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها در اسید نیتریک، اندازه‌گیری یون‌های مس در بافت ریشه و اندام هوایی صورت گرفت. به این منظور از دستگاه جذب اتمی Shimadzu مدل 610 ساخت ژاپن استفاده شد.

#### نتایج

##### درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی

در تحقیق صورت گرفته، جوانه‌زنی بذره‌های شاهی به میزان بیش از ۹۸٪ بود. هیچ یک از تیمارهای اعمال شده ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول مس تأثیر معنی‌داری بر میزان جوانه‌زنی و میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذره‌های شاهی نداشت. تیمار SNP به تنهایی و تیمار متقابل آن نیز تأثیر معنی‌داری بر میزان جوانه‌زنی دانه و میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی نداشت (شکل‌های ۱ و ۲).

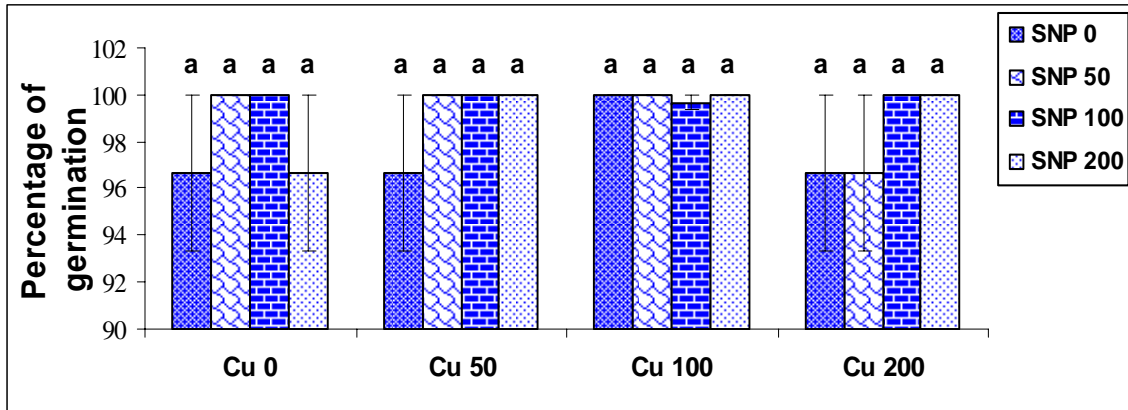
پتری‌ها اضافه گردید. سپس ظروف پتری درون ژرminatور در شرایط روز (۲۰°C، به مدت ۱۶ ساعت)، شب (۱۶°C، به مدت ۸ ساعت) و رطوبت ۵۸٪ قرار داده شدند. برای هر تیمار، تعداد سه ظرف به عنوان سه تکرار در نظر گرفته شد. ابتدا تعداد بذره‌های جوانه‌زده شده، شمارش شدند و جوانه‌زنی زمانی ثبت شد که ریشه‌چه از پوست بذر خارج گردید (Davis *et al.*, 1993). سپس درصد رویش (Germination Percentage) و میانگین لازم برای جوانه‌زنی در روز محاسبه شد (Davis *et al.*, 1993).

#### شرایط رشد گیاه

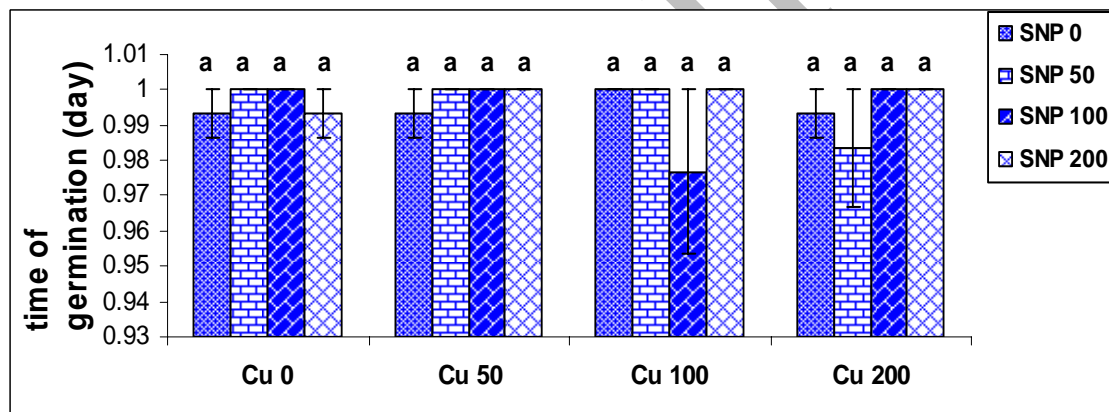
بذره‌های سالم شاهی در گلدان‌هایی به قطر هشت سانتی متر حاوی پرلیت اسید شویی شده، در گلخانه در شرایط طبیعی دمایی ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد شب و روز کشت شدند و پس از رشد دانه‌رست‌ها، تعداد گیاهان هر گلدان به چهار عدد کاهش یافت و سه روز پس از کاشت، گیاهان یک روز در میان تا پایان مدت کاشت (روز ۲۸) با محلول غذایی Long-Ashton آبیاری شدند (علمی، ۱۳۸۲). ۱۰ روز پس از کاشت گیاهان در مرحله ۴ برگی تا پایان مدت کاشت، به صورت یک روز در میان و همزمان تحت تیمارهای ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سولفات مس در محلول غذایی و تیمار ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار SNP به صورت محلول‌پاشی قرار گرفتند.

#### اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه

پس از جدا کردن اندام هوایی و ریشه از یکدیگر، وزن تر و پس از خشک شدن نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد (علمی، ۱۳۸۲).



شکل ۱- اثر متقابل تیمارهای مس و SNP بر میزان جوانه‌زنی بذر. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد و داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

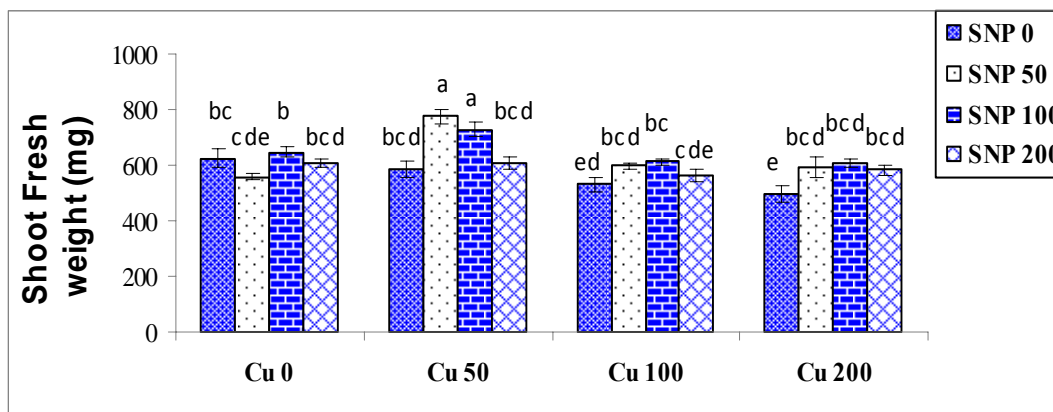


شکل ۲- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی (بر حسب روز). مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند. ( $P \geq 0.05$ ).

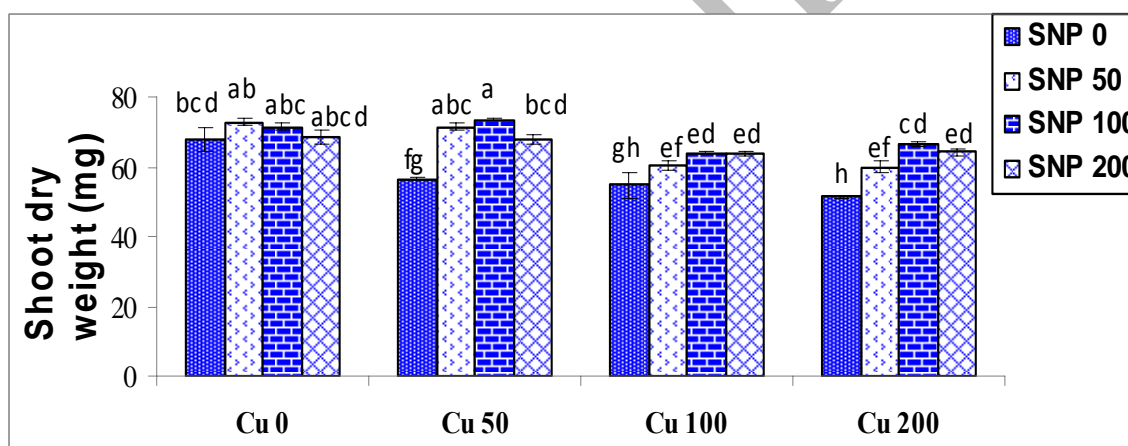
وجود معنی‌دار بودن تأثیرات متفاوتی بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهان شاهی داشت. در گیاهان تحت تنش مس، تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار SNP نسبت به غلظت ۲۰۰ میکرومولار آن باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهان تحت تنش مس شدند (شکل‌های ۳ و ۴).

### وزن تر و خشک اندام هوایی

مقایسه میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تغییرات وزن تر و خشک اندام هوایی در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی، تیمار SNP به تنهایی و تیمار هم‌زمان مس و SNP معنی‌دار است (جدول شماره ۱). تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مس، باعث کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی شدند. تیمار SNP به تنهایی با



شکل ۳- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر میزان وزن تر اندام هوایی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند. ( $0.05 \geq P$ ).



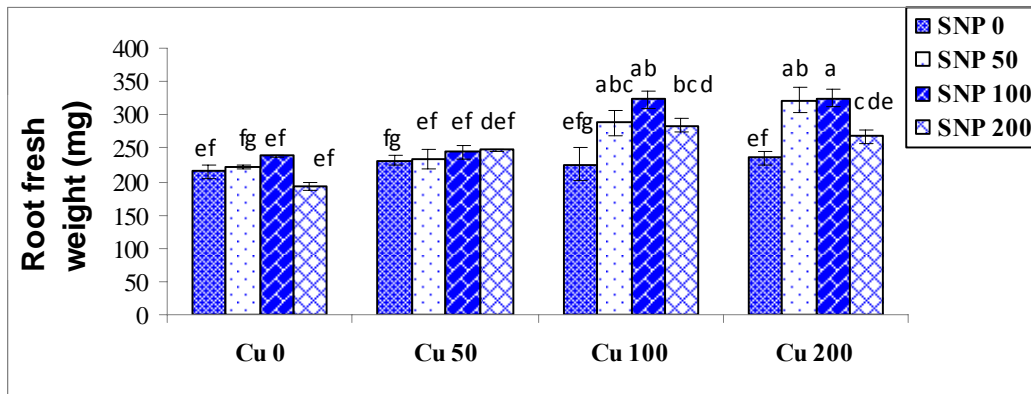
شکل ۴- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر تغییرات وزن خشک اندام هوایی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند. ( $0.05 \geq P$ ).

#### وزن تر و خشک ریشه

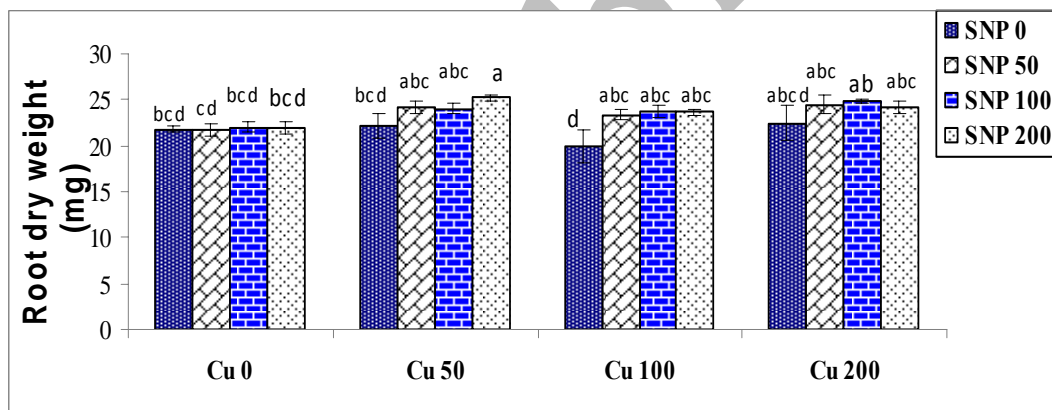
در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی و تیمار SNP به تنهایی معنی دار بوده اما در تیمار همزمان مس و SNP معنی دار نمی‌باشد (جدول شماره ۲). در گیاهان تحت تنش غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مس، تیمار SNP موجب افزایش وزن تر ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد شد. در تیمار

مقایسه میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تغییرات وزن تر ریشه در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی، تیمار SNP به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP معنی دار می‌باشد. این تغییرات برای وزن خشک ریشه

۶. SNP به تنهایی غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP باعث کاهش وزن تر ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد شد. (شکل‌های ۵ و



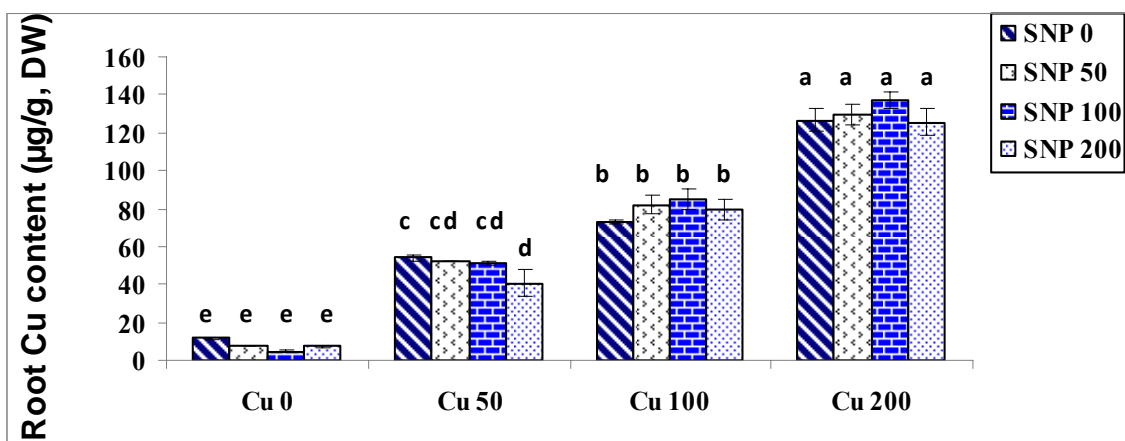
شکل ۵ - تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر تغییرات وزن تر ریشه. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).



شکل ۶ - تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر تغییرات وزن خشک ریشه. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

میزان تجمع فلز مس در ریشه به ترتیب با افزایش غلظت مس در محلول غذایی افزایش یافت، به گونه‌ای که در غلظت ۲۰۰ میکرو مولار سولفات مس، در ریشه به حدود ۱۳۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک رسید (شکل ۷).

**میزان تجمع فلز مس در ریشه**  
مقایسه میانگین مربعات نشان می‌دهد که تغییرات محتوای مس ریشه در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی معنی‌دار بوده، اما در تیمار SNP به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP معنی‌دار نیست.

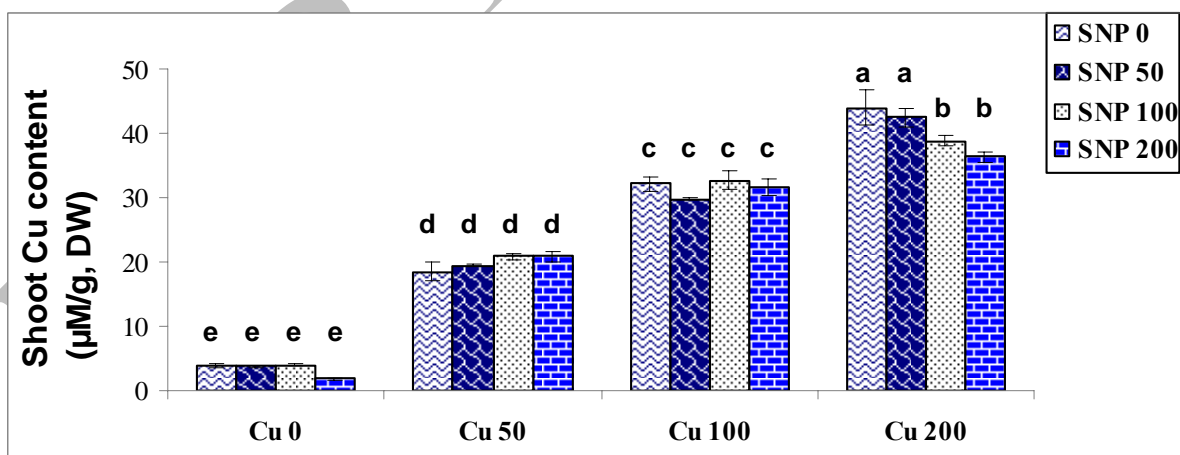


شکل ۷- محتوای فلز مس در ریشه و تأثیر متقابل SNP بر میزان تجمع آن. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

میزان تجمع فلز مس در اندام هوایی به ترتیب با افزایش غلظت مس در محلول غذایی افزایش یافت. در گیاهان تحت تنش مس تیمار SNP تأثیری بر محتوای مس اندام هوایی در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار مس نداشت، ولی تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu$ M SNP در غلظت ۲۰۰  $\mu$ M مس موجب کاهش تجمع این عنصر در اندام هوایی شد (شکل ۸).

#### میزان تجمع فلز مس در اندام هوایی

مقایسه میانگین مربعات نشان می‌دهد که تغییرات محتوای مس اندام هوایی در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP معنی‌دار است اما در تیمار SNP به تنهایی معنی‌دار نیست.

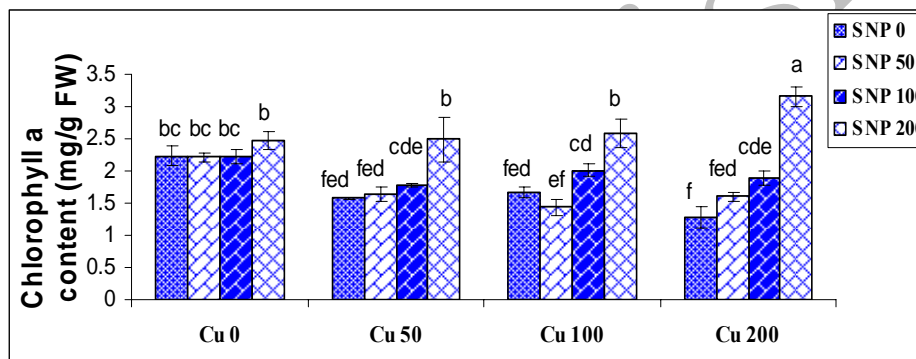


شکل ۸- محتوای فلز مس در اندام هوایی و تأثیر متقابل SNP بر میزان تجمع آن. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

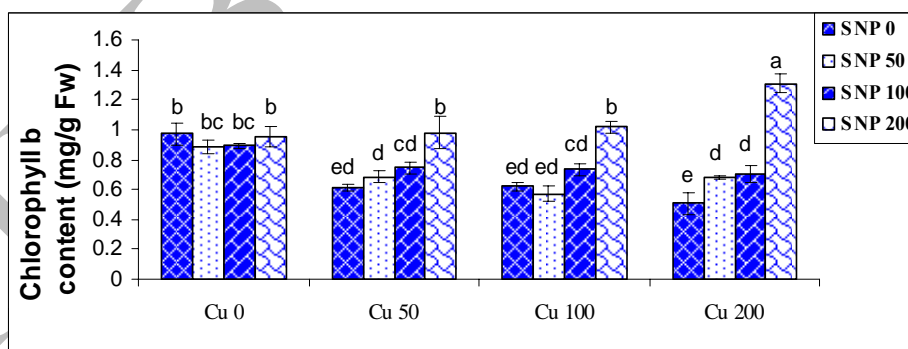
## رنگیزه‌های فتوسنتزی

مقایسه میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تغییرات مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی، تیمار SNP به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP معنی‌دار است (جدول شماره ۱). میانگین مربعات نشان می‌دهد که تغییرات مقدار کاروتنوئید در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی معنی‌دار نیست اما در تیمار SNP به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP این تغییرات معنی‌دار است. بر اساس نتایج، تنش فلز

سنگین مس باعث کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، b، کلروفیل کل در مقایسه با گیاهان شاهد شد. تیمار SNP  $200 \mu\text{M}$  در مقایسه با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار آن باعث افزایش محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در گیاهان تحت تنش فلز سنگین مس به اندازه گیاهان شاهد و یا بیش از آن شد (شکل‌های ۹ تا ۱۲).

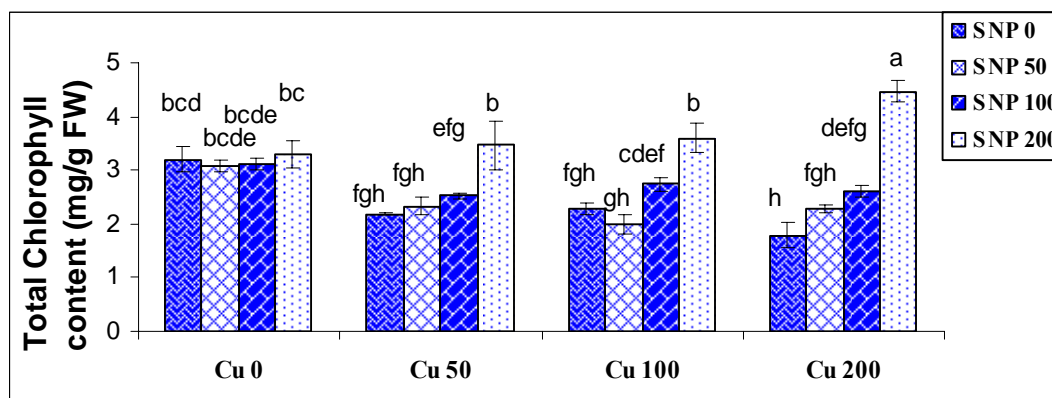


شکل ۹- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر محتوای کلروفیل a در اندام هوایی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

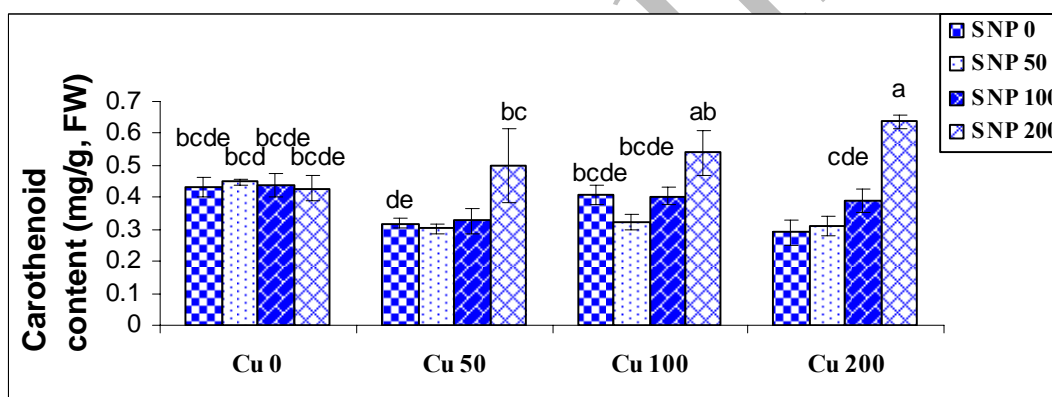


شکل ۱۰- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر محتوای کلروفیل b در اندام هوایی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).





شکل ۱۱- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر محتوای کلروفیل کل. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).



شکل ۱۲- تأثیر متقابل تیمارهای مس و SNP بر محتوای کاروتنوئیدها. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

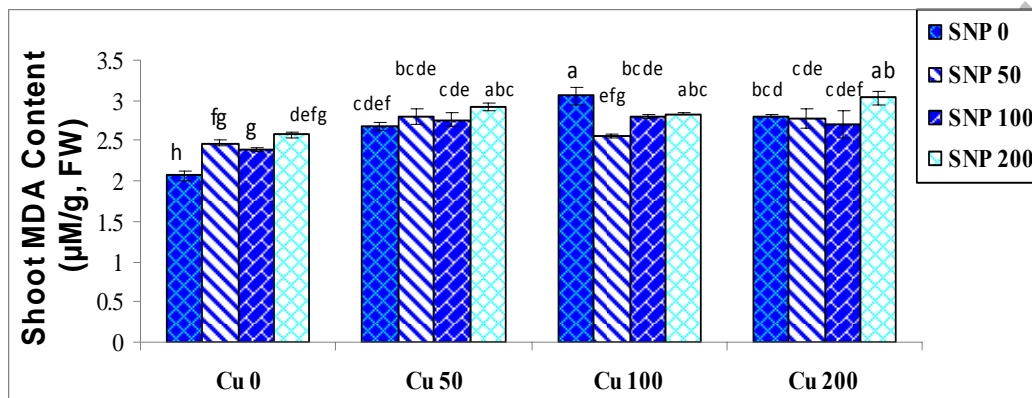
۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار  $\text{CuSO}_4$  محتوای MDA و سایر آلدئیدهای اندام هوایی افزایش پیدا کرد. تیمار SNP به تنهایی نیز باعث افزایش محتوای MDA و سایر آلدئیدهای اندام هوایی در مقایسه با گیاهان شاهد شد. تیمار ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار SNP باعث کاهش معنی‌دار MDA اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با  $100 \mu\text{M}$  Cu شد. در غلظت

#### محتوای مالون دآلدئید و سایر آلدئیدهای اندام هوایی

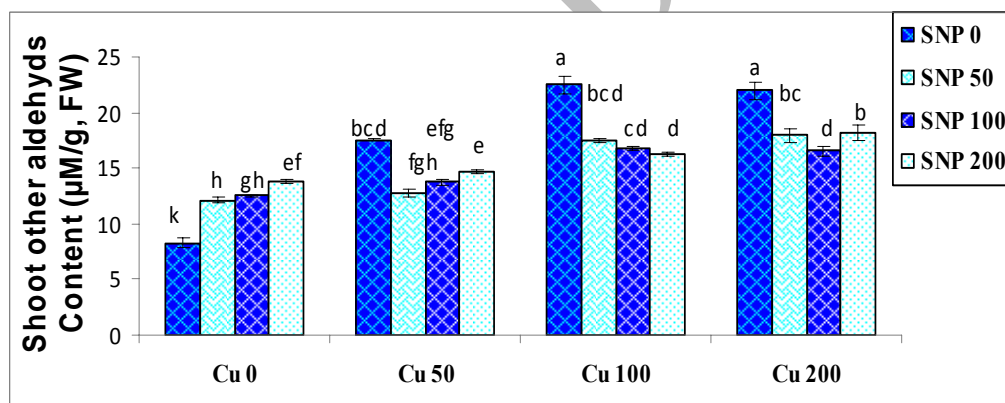
مقایسه میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تغییرات محتوای مالون دآلدئید و سایر آلدئیدهای اندام هوایی در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی، تیمار SNP به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP معنی‌دار است (جدول شماره ۱). تحت تنش غلظت‌های ۵۰،

غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu\text{M}$  Cu شد (شکل‌های ۱۳ و ۱۴).

۲۰۰  $\mu\text{M}$  Cu تیمار SNP ۲۰۰ موجب افزایش بیشتر MDA اندام هوایی شد. تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu\text{M}$  SNP باعث کاهش سایر آلدهیدهای اندام هوایی در



شکل ۱۳- تأثیر تنش فلز سنگین مس و تأثیر متقابل SNP بر محتوای مالون دآلدهید اندام هوایی در گیاه شاهی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).



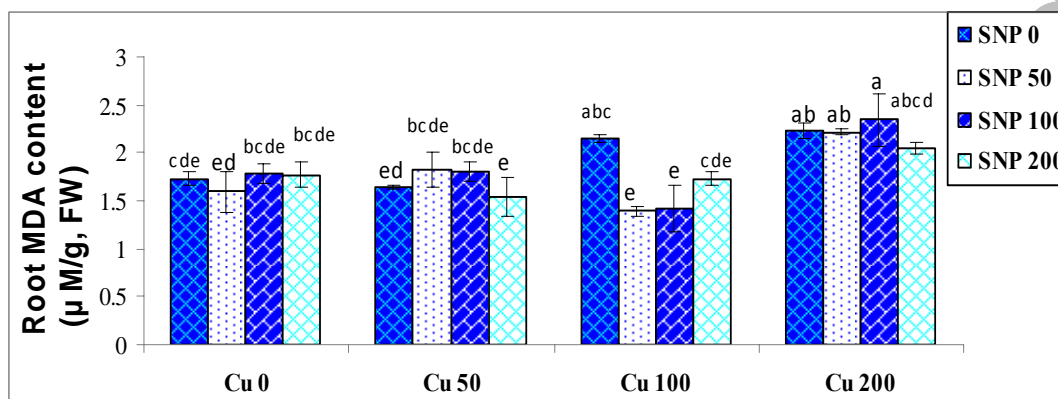
شکل ۱۴- تأثیر تنش فلز سنگین مس و تأثیر متقابل SNP بر محتوای سایر آلدهیدهای اندام هوایی در گیاه شاهی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد و داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند ( $P \geq 0.05$ ).

است اما در تیمار SNP به تنهایی معنی‌دار نیست (جدول شماره ۲). تیمار مس در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار  $\text{CuSO}_4$  موجب افزایش محتوای MDA و سایر آلدهیدهای ریشه نسبت به گیاهان شاهد شد. تیمار SNP به تنهایی تأثیر

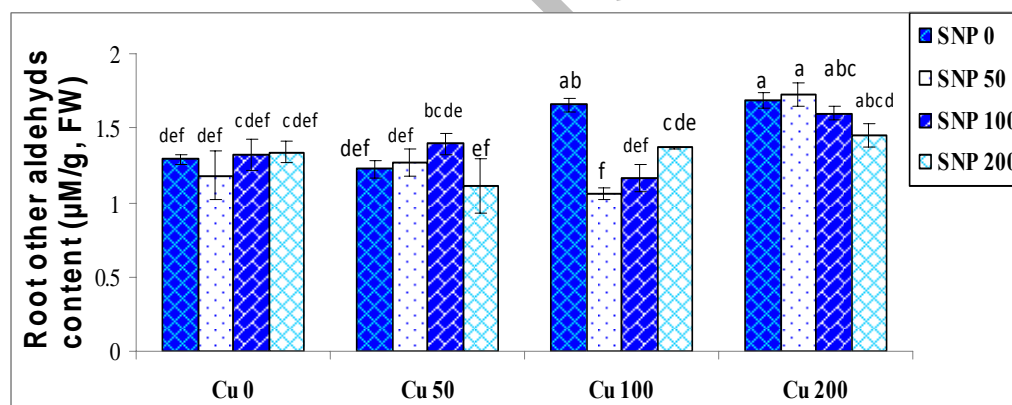
**محتوای مالون دآلدهید و سایر آلدهیدهای ریشه**  
مقایسه میانگین مربعات نشان می‌دهد که تغییرات محتوای مالون دآلدهید و سایر آلدهیدهای ریشه در سطوح مختلف تیمار مس به تنهایی و تیمار همزمان مس و SNP معنی‌دار

سایر آلدهیدهای ریشه شد. در غلظت  $200 \mu\text{M}$  Cu، تیمار SNP تأثیر معنی‌داری بر محتوای MDA ریشه نداشت و فقط در تیمار SNP  $200 \mu\text{M}$  مقدار سایر آلدهیدها کاهش پیدا کرد (شکل‌های ۱۵ و ۱۶).

معنی‌داری بر محتوای MDA و سایر آلدهیدهای ریشه نداشت. تیمار SNP تأثیر معنی‌داری بر میزان پراکسیداسیون لیپید ریشه در غلظت  $50 \mu\text{M}$  CuSO<sub>4</sub> نداشت، اما در غلظت  $100 \mu\text{M}$  CuSO<sub>4</sub> موجب کاهش MDA و



شکل ۱۵- تأثیر تنش فلز سنگین مس و تأثیر متقابل SNP بر محتوای مالون دآلدهید ریشه در گیاه شاهی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد و داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند. ( $P \geq 0.05$ ).



شکل ۱۶- تأثیر تنش فلز سنگین مس و تأثیر متقابل SNP بر محتوای سایر آلدهیدهای ریشه در گیاه شاهی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و دانکن انجام شد و داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  SE هستند. ( $P \geq 0.05$ ).

جدول ۱- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مربوط به اندام هوایی به صورت میانگین مربعات، همراه با سطح معنی‌دار آنها در جدول زیر نشان داده شده است.

MS					
	Chl.a	Chl.b	Chl.T	Car	a.Cu
C	0.413**	0.087**	0.769**	0.012 <sup>ns</sup>	3075.811**
S	2.540**	0.380**	4.637**	0.082**	8.227 <sup>ns</sup>
C × S	0.279**	0.064**	0.666**	0.015*	13.255**

MS				
	FW	DW	MDA	Ald
C	26807.031**	283.348**	0.570**	130.568**
S	19963.976**	282.501**	0.103**	17.674**
C × S	7356.134**	30.770**	0.085**	17.439**

جدول ۲- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مربوط به ریشه به صورت میانگین مربعات، همراه با سطح معنی‌دار آنها در جدول زیر نشان داده شده است.

MS							
	MDA	Ald	t.germ	P.Germ	FW	DW	a.Cu
C	0.788**	0.344**	5.000E-05 <sup>ns</sup>	0.339 <sup>ns</sup>	12062.85**	13.084**	31534.54**
S	0.079 <sup>ns</sup>	0.061 <sup>ns</sup>	3.889E-05 <sup>ns</sup>	0.686 <sup>ns</sup>	5878.722**	12.576**	81.727 <sup>ns</sup>
C * S	0.140*	0.083**	0.000 <sup>ns</sup>	0.450 <sup>ns</sup>	2043.504**	1.915 <sup>ns</sup>	69.079 <sup>ns</sup>

ns: بی معنی، \*: معنی‌دار در سطح ۹۵٪، \*\*: معنی‌دار در سطح ۹۹٪، MS: میانگین مربعات، که برای هر صفت در زیر آن آورده شده است. C: فاکتور مس، S: فاکتور SNP، C \* S: بررسی همزمان فاکتور مس و SNP، Chl.a، Chl.b، Chl.T: کلروفیل کل، Car: کاروتنوئید، a.Cu: محتوای مس، FW: وزن تر، DW: وزن خشک، MDA: مالون‌دآلدهید، Ald: سایر آلدهیدها، P.Germ: درصد جوانه‌زنی، t.germ: میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی.

## بحث

## بررسی جوانه‌زنی بذر

گزارش شده که با افزایش غلظت مس، درصد جوانه‌زنی دانه‌های گندم به تدریج کاهش یافته، اما پیش تیمار SNP درصد جوانه‌زنی بذرهای گندم را بهبود داده و تأثیر مهاری تنش مس بر جوانه‌زنی بذر را به تدریج کاهش داده است (Hu *et al.*, 2007). همچنین SNP موجب تحریک جوانه‌زنی دانه و رشد ریشه لوبیا نیز شده است (Kopyra and Gwóźdz, 2003). تحریک جوانه‌زنی نوری توسط NO برای دانه‌های کاهو ثابت شده است. البته، مشاهده شده است که تصاعدهای گازی حاوی NO و NO<sub>2</sub> توانسته‌اند جوانه‌زنی بذر را مشابه دود القا کنند (Beligni and Lamattina, 2000). مشخص شده است که NO یک محرک قوی جوانه‌زنی است و این عمل توسط فلزات سنگین ممانعت نمی‌شود. طبق بررسی‌ها اثر تحریکی NO در مراحل اولیه جوانه‌زنی مشخص تر بوده است و چون خروج ریشه چه به عنوان معیار جوانه‌زنی محسوب می‌شود، عمل NO احتمالاً مربوط به طول شدن ریشه در مراحل اولیه پس از جوانه‌زنی است. البته، تصور می‌شود اثر دهنده NO روی رشد ریشه مربوط به جذب آب نیست (Kopyra and Gwóźdz, 2003). عدم تأثیر مس و SNP در غلظت‌های اعمال شده بر جوانه‌زنی بذرهای شاهی، می‌تواند به علت جذب سریع آب و در نتیجه رشد سریع بذرهای آن باشد که کمتر از ۲۴ ساعت اتفاق می‌افتد.

## بررسی فاکتورهای رشد

Cu می‌تواند از طریق اعمال تأثیرات زیان بار بر فرآیندهای فیزیولوژیک مهم موجب ناهنجاری‌هایی در رشد و

نمو گیاه شود (Yruela, 2005). تأثیر سمیت مس روی ریخت‌شناسی ریشه مشابه سمیت آلومینیوم رشد، تکثیر سلول‌ها و تعداد تارهای کشنده را کاهش می‌دهد (Sheldon and Menzies, 2004). در بررسی سمیت مس بر گیاهچه به علت مرگ سلول‌های مریستمی، نوک ریشه قهوه‌ای رنگ دیده می‌شود و رشد ریشه کاهش یافته، غالبیت انتهایی از میان می‌رود. برای این منظور، جهت حفظ بقای گیاه و جذب آب و مواد غذایی، تعداد ریشه‌های فرعی افزایش می‌یابد. در خصوص کاهش رشد مشاهده شده در گیاهان مورد آزمایش، در گزارش‌های متعددی بیان شده که غلظت زیاد مس در محلول غذایی موجب کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی Bentgrass (Faust and Christians, 2000)، ذرت (Chaffai *et al.*, 2005)، آفتابگردان (El-Tayeb *et al.*, 2006) و همچنین کاهش رشد ریشه و ساقه در گیاه علفی *Chloris gayana* شده است (Sheldon and Menzies, 2004).

البته، در مواردی مس اضافی تأثیری بر وزن خشک برگ، ریشه و ساقه گیاهان خیار نداشته است و فقط برگ‌های در حال توسعه کاهش رشد را نشان داده‌اند. در چنین حالتی، می‌توان فرض کرد فعالیت مخزن (توسعه برگ) بیش از بارگیری آوند آبکش و انتقال مواد محلول، تحت تأثیر مس اضافی قرار گرفته است (Sossé *et al.*, 2004). تصور می‌شود که اتصال  $Cu^{2+}$  به صورت مستقیم یا با جایگزینی قسمتی از  $Ca^{2+}$  دیواره سلول انعطاف‌پذیری آن را کاهش داده، در نتیجه موجب کاهش رشد برگ در حضور مس اضافی می‌شود (Sossé *et al.*, 2004). البته، در گیاهچه‌های برنج،  $H_2O_2$  القا شده تحت تنش مس اضافی، از

می‌روند (Ouzounidou *et al.*, 1995). این موضوع نشان می‌دهد بعضی سلول‌ها مس را جمع کرده و می‌میرند، ولی سایر سلول‌ها وضعیت طبیعی خود را حفظ می‌کنند. این پاسخ ناهمگون سلول‌ها به مس یک راه مقابله با سمیت مس است (Reichman, 2002).

مهار رشد در اثر فلزات سنگین ممکن است مربوط به تغییر وضع آبی گیاه و میتوز، چرخه سلول و سختی دیواره سلول نیز باشد (El-Tayeb *et al.*, 2006).

از طرفی، بعضی دلایل نشان می‌دهد که افزایش فعالیت پراکسیداز (peroxidase) آپوپلاستی در اثر فلز سنگین اتصال گلیکوپروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین را با اسیدهای فنولی افزایش می‌دهد. این فرآیند ضخامت دیواره ثانویه سلول را زیاد کرده که بر رشد سلول و طویل شدن ریشه تأثیر منفی دارد (Wang and Yang, 2005).

در ارتباط با کاربرد SNP در بهبود سمیت مس استفاده از غلظت‌های کم NO در گیاه نخود باعث افزایش وزن تر و سطح برگ شده، اما هیچ افزایشی در وزن تر و سطح برگ در غلظت‌های بالاتر NO دیده نشد. احتمال وجود یک حلقه ارتباطی بین NO و رشد ریشه با IAA وجود دارد؛ مانند خروج  $H^+$  برای توسعه دیواره در غشای پلاسمایی، یا ورود کلسیم از طریق کانال‌های خاص (Beligni and Lamattina, 2001). کاربرد NO همانند اکسین می‌تواند موجب افزایش رشد ریشه ذرت شود (Gouvea *et al.*, 1997). البته، تیمار برگ‌های نخود با غلظت بالای NO. علائم تنش را نمایان کرده است (Leshem *et al.*, 1998). برای مثال، کاربرد SNP تأثیر معنی‌داری بر رشد ریشه لوبیا نداشته است (Kopyra and Gwózdź, 2003). مشاهده

طریق اتصال متقاطع میان پلیمرهای دیواره باعث مهار رشد شده است (Chen *et al.*, 2000).

همچنین، مهار رشد القا شده به وسیله مس می‌تواند به علت افزایش بارگیری (overloading) آوند آبکش و اختلال در فعالیت فتوسنتز II باشد (Vassilev *et al.*, 2003). همچنین مهار طویل شدن سلول در اثر سمیت مس یک فرآیند پیچیده مربوط به فشار تورگور و سنتز ترکیبات دیواره می‌باشد (Sossé *et al.*, 2004).

کاهش  $K^+$  تحت تنش مس اضافی موجب کاهش پتانسیل اسمزی سلول و در نتیجه کاهش توسعه سلول‌های برگ در خیار (Sossé *et al.*, 2004) و مهار رشد طولی و آسیب غشاء پلاسمایی سلول‌های ریشه گیاه علفی Bentgrass شده است (Faust and Christians, 2000). کاهش رشد مشاهده شده می‌تواند مربوط به مهار تقسیم سلول توسط فلز باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که با افزایش غلظت مس، شاخص میتوزی کاهش و وضعیت غیر عادی میتوز افزایش می‌یابد (Panou-Filotheou *et al.*, 2001).

همچنین در گیاهان *Chlorella vulgaris* تیمار شده با مس کاهش رشد، مربوط به مهار تقسیم سلولی بوده است. کاهش در میزان تقسیم سلول می‌تواند مربوط به اتصال یون‌های مس به گروه‌های سولفیدریل باشد که برای تقسیم سلول گیاهی مهم هستند. البته، کاهش رشد می‌تواند به دلیل کاهش شدید حجم ریشه گیاه تحت تنش مس و کاهش جذب آب نیز باشد (Panou-Filotheou *et al.*, 2001).

تیره و خشک شدن ریشه گیاه شاهی می‌تواند ناشی از مرگ سلول‌ها در اثر مس اضافی باشد. در ریشه ذرت نیز بعضی سلول‌ها، تحت تنش مس آسیب دیده و از میان

گیاه، ترکیب، pH و پتانسیل احیایی شیرخام می‌تواند مقدار و تحرک یون‌های مس را در آوند چوب و در نتیجه میزان تجمع آن را در بخش‌های مختلف گیاه، تحت تأثیر قرار دهد (Liao et al., 2000).

البته، این احتمال نیز وجود دارد که گیاه شاهی با ممانعت سلولی فلز مس در فضای آپوپلاست ریشه، از ورود بیشتر این فلز به درون سیتوزول جلوگیری کرده و در نتیجه، انتقال آن را به اندام هوایی کاهش داده است. به همین دلیل یک جزء گسترده فلزات در ریشه گیاهان در فضای آزاد آپوپلاستی یافت می‌شود. سطح بالای تجمع فلز در سطح مشترک دیواره و غشای پلاسمایی به عنوان یک جایگاه مقاومت فلزی پیشنهاد می‌شود (Reichman, 2002). برای مثال ۶۰٪ مس در برخی گیاهان علفی به غشای پلاسمایی و دیواره متصل شده است (Chaignon and Hinsinger, 2003).

بارگیری فلزات در برگ‌های پیر و ریزش برگ‌های پیر در بسیاری از گونه‌های تحت تنش فلز دیده شده است (Reichman, 2002). احتمالاً مقدار بیشتری از فلز مس در برگ‌های پایین‌تر گیاه شاهی، بخصوص برگ‌های پیر جمع پیدا کرده و به برگ‌های بالاتر منتقل نشده است که می‌تواند یکی از دلایل کاهش فلز مس در برگ‌های بالایی گیاه باشد. مس تمایلی به تجمع در اندام هوایی ندارد و احتمالاً به دلیل وجود مکانیسم‌های مقاومت به مس در ریشه، غلظت مس در بافت ریشه به صورت خطی با افزایش غلظت آن در محلول غذایی افزایش یافته است (Faust and Christians, 2000; Sheldon and Menzies, 2004). مس موجود در ریشه‌ها یا کورتکس بیشتر به صورت متصل به دیواره سلولی است (Chaffai et al., 2005).

شده است که افزایش بیش از حد غلظت SNP اثر زیانباری بر رشد ریشه *Cassia tora* تحت تنش فلز سنگین داشته و بهبود رشد ریشه توسط SNP به زمان بستگی داشته است (Wang and Yang, 2005).

### بررسی میزان تجمع مس در بخش‌های مختلف گیاه و تأثیر متقابل SNP بر آن

ترکیب محلول غذایی به علت رقابت کاتیون‌هایی مثل  $\text{Ca}^{2+}$  یا  $\text{Mn}^{2+}$  در محلول غذایی با  $\text{Cu}^{2+}$ ، در میزان جذب فلز مس به گیاه اهمیت دارد. در نتیجه، وجود سایر عناصر به مقدار زیاد در محلول غذایی موجب کاهش جذب مس در ریشه گیاهانی می‌شود که با محلول غذایی تغذیه شده‌اند (Chaignon and Hinsinger, 2003). در غلظت زیاد مس مشاهده شده است که محتوای مس ریشه گیاهان لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) و بسیاری از گیاهان دیگر افزایش پیدا می‌کند. بیشتر فلزات سنگین می‌توانند از ریشه به ساقه حرکت کنند. بعضی از گیاهان مقاوم به مس به وسیله نگهداری Cu در ریشه، از رسیدن Cu به ساقه و برگ‌ها جلوگیری می‌کنند. محدودیت انتقال مس به ساقه و برگ‌ها به عنوان یک مکانیسم مقاومت به مس در گیاهان مطرح است (Yurekli and Porgali, 2006).

از عوامل تأثیر گذار در تجمع فلز در بخش‌های مختلف گیاه، انتقال یون‌های فلزی به اندام هوایی درون آوند چوب، توسط انتقال توده‌ای آب، بر اثر تبخیر است (Welch, 1995).

در وضعیتی که مقدار فلز زیاد باشد، تعرق می‌تواند در جابه‌جایی یون‌های فلزی نقش بیشتری اعمال کند (Reichman, 2002). بنابراین، میزان تعرق، وضعیت آبی

کاهش کلروفیل پس از تیمار مس ممکن است مربوط به توقف عمل آنزیم‌های دخیل در سنتز کلروفیل یا تجزیه کلروفیل باشد (Yruela, 2005).

مس اضافی در گیاهان جایگزین آهن در جایگاه فعال آن شده، از این طریق، باعث کمبود آهن و در نتیجه رنگ پریدگی شدیدتر برگ می‌شود (Lombardi and Sebastiani, 2005; Boycheva and Babalakova, 2008).

گزارش شده است که فلزات سنگین بیوسنتز کلروفیل را به ویژه به وسیله مهار دلتا - آمینولولینیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلاید ردوکتاز مهار می‌کنند. در کل کاروتنوئیدها کمتر تحت تأثیر فلزات سنگین قرار می‌گیرند و در نتیجه، موجب کمتر شدن نسبت کلروفیل به کاروتنوئید در گیاهان آلی می‌شود (Prasad, 1998).

کاربرد SNP موجب بهبود اثر سمی مس بر کاهش میزان کلروفیل، کاروتنوئید در گیاه شاهی شد. این تأثیر SNP با افزایش غلظت آن مشخص‌تر بود. بر همین اساس SNP کاملاً از کلروز بین رگبرگی برگ‌ها در ذرت جلوگیری کرده و محتوای کلروفیل را در مقایسه با گیاهان کنترل افزایش داده است (Graziano *et al.*, 2002). گزارش شده است که NO بر کاهش کلروفیل ناشی از افزایش سن در گیاهچه‌های گندم (Tu *et al.*, 2003)، تنش اکسیداتیو در گیاه گوجه (Beligini and Lamattina, 1999) و تنش شوری در ذرت (Zhang *et al.*, 2006) غلبه می‌کند. نیتریک اکسید میزان کلروفیل گیاهچه‌های گندم رشد کرده در تاریکی را افزایش و در غلظت‌های  $1\mu\text{M}$  تا  $100\text{ nM}$  تخریب کلروفیل

در ارتباط با کاربرد SNP بر محتوای مس، گزارش شده که تیمار SNP تأثیر معنی‌داری بر محتوای Cu بذرهای گندم تحت تنش مس نداشته است (Hu *et al.*, 2007). مشاهدات موجود نشان می‌دهد تیمار SNP فقط در غلظت  $200\text{ }\mu\text{g/L}$  میکرومولار باعث کاهش محتوای مس برگ در غلظت  $200\text{ }\mu\text{g/L}$  میکرومولار تنش مس شده است.

### بررسی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

سمیت مس اغلب با کلروز بین رگبرگی و نکروز همراه است (Reichman, 2002). کاهش محتوای کلروفیل a تحت تنش مس اضافی توسط عده‌ای از محققان گزارش شده است (El-Sarraf and Taha, 1995; El-Tayeb *et al.*, 2006). طبق گزارش، مس اضافی میزان کلروفیل b و کاروتنوئیدها را نیز در گیاه آفتاب‌گردان کاهش داده است (El-Tayeb *et al.*, 2006). عوامل ایجاد کننده تنش اکسیداتیو، مانند تنش فلزات سنگین ممکن است محتوای کلروفیل را به وسیله برهم زدن تعادل در بازگشت پروتئین‌های کمپلکس سیستم نوری ۲ (Photosystem II) کاهش دهند (Laspina *et al.*, 2005).

به نظر می‌رسد کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش مس عموماً به علت تجزیه فزاینده آنها باشد (Vassilev *et al.*, 2003). بر این اساس، تنش طولانی مدت مس موجب تخریب کلروفیل در گیاه چاودار شده است (Ali and Alqurainy, 2004). مس تشکیل کلروفیل را متوقف کرده و موجب افزایش تخریب کاروتنوئیدها در برگ‌های جو شده است (Luna *et al.*, 1994).



نتایج گوناگون نشان می‌دهد که مس یک کاتالیزور قدرتمند تشکیل رادیکال‌های آزاد بوده، یون‌های مس به تنهایی نیز قادر به آسیب اکسیداتیو لیپیدهای غیر اشباع هستند. گزارش شده است که افزایش مقدار مالون دآلدئید در برگ‌های گوجه فرنگی تحت تنش مس می‌تواند به دلیل آسیب دستگاه فتوسنتزی، کاهش قدرت احیا کنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش انرژی متابولیکی سلول برای برآورده کردن نیازهای مربوطه باشد (Chamseddine *et al.*, 2009). مشخص شده است که حضور مقادیر زیاد فلزات واسطه، مثل مس و آهن به افزایش تولید  $HO^-$  از  $O_2^-$  از طریق واکنش فتون می‌انجامد. به همین دلیل، مقدار زیاد MDA پیشنهاد می‌کند که یون‌های فلزی تولید رادیکال‌های آزاد را تحریک می‌کنند (Choudhary *et al.*, 2006).

در پژوهش حاضر، تحت تنش مس مقدار سایر آلدئیدها بیش از MDA افزایش پیدا کرد. به دلیل آنکه MDA آخرین محصول پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد اضافی است، احتمالاً تنش مس قبل از تولید MDA، تولید سایر آلدئیدها را تحت تأثیر قرار داده است. در گیاهچه‌های ذرت تیمار شده با مس پراکسیداسیون لیپید در بافت ریشه بیش از اندام هوایی بوده است (Chaffai *et al.*, 2005).

یکی دیگر از دلایل افزایش پراکسیداسیون لیپید القای فعالیت لیپوکسیژناز در حضور یون مس است. این آنزیم به عنوان آغاز کننده پراکسیداسیون لیپید شناخته می‌شود (Ali and Alqurainy, 2004; Chaffai *et al.*, 2005). مشخص شده است که نیتریک اکسید حاصل از SNP، مقدار

ناشی از علف‌کش‌های پاراکوات و دی‌کوات را نیز در گندم کاهش داده است (Beligni and Lamattina, 2001). NO موجب افزایش محتوای کلروفیل برگ ذرت در شرایط کمبود آهن شده است (Boycheva and Babalakova, 2008). البته، گزارش شده که NO محتوای کلروفیل را در بوته‌های نخود تحت تنش شوری کاهش داده است (Sheokand *et al.*, 2008). همچنین SNP موجب کاهش محتوای کلروفیل برگ‌های برنج در غلظت‌های ۱۰۰ و  $200 \mu M$  شده (Hsu and Kao, 2004)، در حالی که در بررسی ما SNP به تنهایی تأثیری بر محتوای کلروفیل، کاروتنوئیدها در گیاه شاهی نداشت.

### بررسی پراکسیداسیون لیپید

برای برآورد تنش اکسیداتیو، محتوای MDA بافت به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو گیاهان در معرض فلزات سنگین بررسی می‌گردد (Chen and Kao, 1999; Chamseddine *et al.*, 2009). فلزات سنگین موجب پراکسیداسیون شدید لیپید از طریق برداشت H توسط ROS از اسیدهای چرب غیر اشباع شده، موجب تشکیل رادیکال‌های لیپیدی می‌شوند. مشخص شده که یون‌های آزاد Cu قادرند با مولکول‌های آب واکنش داده، رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل را تولید کنند و از این طریق، موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شوند (Chaffai *et al.*, 2005).

برای مثال غلظت زیاد مس موجب افزایش پراکسیداسیون لیپید در ریشه گیاهان برنج شده است (Chen *et al.*, 2000).

می‌شود، اما تیمار SNP فعالیت آن را کاهش داده است (Nasibi and Kalantari, 2009).

### جمع‌بندی

با توجه به نتایج حاصل، مس اضافی موجب افزایش MDA و سایر آلدئیدها شده که دلیلی بر ایجاد تنش اکسیداتیو در ریشه و اندام هوایی گیاه شاهی است. مشخص شده است که NO می‌تواند واکنش فنتون را توسط برهمکنش با  $Fe^{2+}$  و تشکیل کمپلکس آهن - نیتروزیل مهار کند و از تولید رادیکال هیدروکسیل جلوگیری کند و به این صورت از آسیب لیپیدها، پروتئین‌ها و سایر ترکیبات سلولی جلوگیری کند. همچنین، در این پژوهش مشخص شد که SNP اثر حفاظتی روی سمیت مس در گیاه شاهی دارد. در بررسی حاضر مشخص شد که غلظت ۵۰ میکرومولار SNP تأثیر حفاظتی کمی در سمیت مس داشته و غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP در مواردی موجب القای تنش در گیاه شاهی شد که با نتایج سایرین مطابقت دارد. در پژوهش حاضر، به این نتیجه رسیدیم که SNP می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش فلز سنگین مس را در گیاهان شاهی *L. sativum* کاهش دهد. این تأثیر SNP از طرفی می‌تواند مربوط به جلوگیری از مهار رشد و تجزیه کلروفیل و کاروتنوئیدها، ناشی از تنش مس و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید به عنوان قسمتی از ماشین آنتی‌اکسیدان باشد، که به گیاه اجازه مقابله بهتر با تنش فلز سنگین مس را می‌دهد.

MDA حاصل از پراکسیداسیون لیپید را در گیاه آفتاب‌گردان تحت تنش کادمیوم (Laspina *et al.*, 2005)، گیاه نخود تحت تنش شوری (Sheokand *et al.*, 2008) و گوجه فرنگی تحت تنش اسمزی کاهش داده است (Nasibi and Kalantari, 2009).

واکنش NO با ROS موجب جلوگیری از آسیب غشا می‌شود. واکنش NO با آلکوکسی لیپیدها و رادیکال‌های پراکسیل سریع است و می‌تواند گسترش رادیکال و اکسیداسیون لیپید ناشی از آن را مستقیماً متوقف کند (Beligini and Lamattina, 1999).

NO به عنوان جاروب‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند. بنابراین، کاهش محتوای MDA در اثر کاربرد SNP مربوط به کاهش گونه‌های فعال اکسیژن مثل  $H_2O_2$  در اندام‌های گیاه تحت تنش فلز سنگین است (Hsu and Kao, 2004).

گزارش شده است که نقش NO در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید مربوط به توانایی NO برای واکنش با رادیکال‌های آلکوکسی لیپید ( $LO\cdot$ ) و پراکسیل لیپید ( $LOO\cdot$ ) است که به توقف زنجیر پراکسیداسیون به روش مستقیم منجر می‌شود. همچنین، طبق بررسی‌ها مشخص شده است که NO با احیای  $Fe^{3+}$  به  $Fe^{2+}$  در جایگاه فعال لیپوکسیژناز و غیر فعال کردن آن، می‌تواند پراکسیداسیون لیپید را کاهش دهد (Wang and Yang, 2005; Nasibi and Kalantari, 2009).

در گیاهان گوجه‌فرنگی لیپوکسیژناز تحت تنش اسمزی القا شده و موجب اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع

## قدردانی

در پایان بر خود لازم می‌دانم تا از راهنمایی استاد عزیز و گرانقدر خانم دکتر زهرا اسرار و همکاری آقای دکتر شهرام پورسیدی و خانم سمیه میرزایی پور تقدیر و تشکر خود را اعلام دارم.

## منابع

- forms of Zinc. *Plant Physiology* 34 (3-4): 295-308.
- Chaffai, R., Tekitek, A. and El-Ferjani, E. (2005) Comparative Effects of copper and cadmium on Growth and Lipid content in maize seedlings (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8 (4): 649-655.
- Chaignon, V. and Hinsinger, P. (2003) Heavy Metals in the Environment: A Biotest for Evaluating Copper Bioavailability to Plants in a Contaminated Soil. *Journal of Environmental Quality* 32:824-833.
- Chamseddine, M., Wided, B. A., Guy, H., Marie-Edith, C. and Fatma, J. (2009) Cadmium and copper induction of oxidative stress and antioxidative response in tomato (*Solanum lycopersicon*) leaves. *Plant Growth Regulation* 57:89-99.
- Chen, L. M. and Kao, C. H. (1999) Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 40: 283-287.
- Chen, L. M., Lin, C. C. and Kao, C. H. (2000) Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels, cellwall peroxidase activity in roots. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41: 99-103.
- Choudhary, M., Jetley, U. K., Khan, M. A., Zutshi, S. and Fatma, T. (2007) Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 204-209.
- Davis, J.G., Hossner, L.R. and Persaud, N. (1993) Elemental toxicity effects on the germination and growth of pearl millet seedlings. *Journal of Plant Nutrition* 16: 1957-1968.
- El-Sarraf, W. M. and Taha, O. E. (1995) Effects of copper on photosynthetic activity and Chlorophyll-a content of *Chaetoceros radicans*
- علمی، ح. (۱۳۸۲) بررسی اثر کادمیوم بر برخی از پارامترهای رشد و القاء تنش اکسیداتیو در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران.
- Ali, A. and Alqurainy, F. (2004) Activities of antioxidants in plants under environmental stress. Dep. Of Botany, Faculty of Science, Zagazig University, Zagazig, Egypt. Pp: 1-50.
- Bartha, B., Kolbert, Z. and Erdei, L. (2005) Nitric oxide production induced by heavy metals in *Brassica juncea* L. Czern. and *Pisum sativum* L. *Acta Biologica Szegediensis*. 49 (1-2): 9-12.
- Beligni, M. V. and Lamattina, L. (1999) Nitric oxide protects against cellular damage produced by Methyl viologen herbicides in potato plants. *Nitric Oxide* 3: 199-208.
- Beligni, M. V. and Lamattina, L. (2001) Nitric oxide in plants: the history is just beginning. *Plant, Cell and Environment* 24: 267-278.
- Berglund, H., Quartacci, M. F. and Liljenberg, C. (2000) Changes in plasma-membrane lipid composition: a strategy for acclimation to copper stress. *Biochemical Society Transactions* 28 (6): 905-908.
- Boycheva, S. and Babalakova, N. (2008) Does chelated Copper ameliorate the greening of Iron-deficient Cucumber plants through nitric oxide signaling? Comparison with chemical

- Leshem, Y. Y., Wills, R. B. H. and Veng-Va Ku, V. (1998) Evidence for the function of the free radical gas – nitric oxide (NO) – as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 36: 825-833.
- Liao, M. T., Hedley, M. J., Woolley, D. J., Brooks, R. and Nichols, M. A. (2000) Copper uptake and translocation in chicory (*Cichorium intybus* L. cv Grasslands Puna) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv Ronly) plants grown in NFT system. II. The role of nicotianamine and histidine in xylem sap copper transport. *Plant and Soil* 223: 243-252.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 1: 591-592.
- Lombardi, L. and Sebastiani, L. (2005) Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Plant Science* 168: 797-802.
- Luna, C. M., Gonzalez, C. A. and Trippi, V. S. (1994) Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant and Cell Physiology* 35: 11-15.
- Meir, S., Philosophadas, S. and Aharoni, N. (1992) Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid-peroxidation products detected during Parsley by a newly developed method. *Journal of the American Society For Horticultural Science* 117: 128-132.
- Nasibi, F. and Kalantari K. M. (2009) Influence of nitric oxide in protection of tomato seedling against oxidative stress induced by osmotic stress. *Acta Physiology Plant* 31:1037-1044.
- Ouzounidou, G., Ciamporova, M., Moustakas, M. and Karataglis, S. (1995) Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress I. Growth, mineral content and ultrastructure of roots. *Environmental and Experimental Botany* 35: 167-176.
- schutt. *Bulletin of High Institute of Public Health* 25: 439-446.
- El-Tayeb, M. A., El-Enany, A. E. and Ahmed, N. L. (2006) Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50:191-199.
- Faust, M. B. and Christians, N. E. (2000) Copper Reduces Shoot Growth and Root Development of Creeping Bentgrass. *Crop Science* 40:498-502.
- Gouvêa, C. M. C. P., Souza, J. F., Magalhães, A. C. N. and Martins, I. S. (1997) NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. *Plant Growth Regulation* 21: 183-187.
- Graziano, M., Beligni, M. V. and Lamattina, L. (2002) Nitric Oxide Improves Internal Iron Availability in Plants. *Plant Physiology* 16: 1852-1859.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated Chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Biochemistry and Biophysics* 125: 189-190.
- Hsu, Y. T. and Kao, C. H. (2004) Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. *Plant Growth Regulation* 42: 227-238.
- Hu, K. D., Hu, L. Y., Li, Y. H., Zhang, F. Q. and Zhang, H. (2007) Protective roles of nitric oxide on germination and antioxidant metabolism in wheat seeds under copper stress. *Plant Growth Regulation* 53:173-183.
- Kopyra, M. and Gwóźdz', E. A. (2003) Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 1011-1017.
- Laspina, N. V., Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 169: 323-330.

- Barley Plants. Implication with a screening test for Cu tolerance. *Journal of Central European Agriculture* 4: 225-236.
- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *nitric oxide* 15:351-358.
- Wang, Y. S. and Yang, Z. M. (2005) Nitric Oxide Reduces Aluminum Toxicity by Preventing Oxidative Stress in the Roots of *Cassia tora* L. *Plant Cell Physiology* 46 (12): 1915-1923.
- Watts, N., Ponka, P. and Richardson, R. (2003) Effects of nitrogen monoxide and carbon monoxide on molecular and cellular iron metabolism: mirror-image effector molecules that target iron. *Biochemical Journal* 369: 429-440.
- Welch, R. M. (1995) Micronutrient nutrition of plants. *Critical Reviews in Plant Science* 14: 49-82.
- Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D. F. and Durner, J. (2001) Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Plant Science* 6: 1360-1385.
- Wieczorek, J. F., Milczarek, G., Arasimovicz, M. and Ciszewski, A. (2006) Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants. *Planta* 224:1363-1372.
- Yruela, I. (2005) Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1):145-156.
- Yurekli, F. and Porgali, Z. B. (2006) The effects of excessive exposure to copper in Bean plants. *Acta Biologica Series Botanica* 2: 7-13.
- Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Wei, Q. and Zhang, W. (2006) Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and
- Panou-Filotheou, H., Bosabalidis, M. and Karataglis, S. (2001) Effects of Copper Toxicity on Leaves of Oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). *Annals of Botany* 88: 207-214.
- Patsikka, E., Kairavuo, M., Sersen, F., Aro, E. M. and Tyystjarvi, E. (2002) Excess Copper Predisposes Photosystem II to Photoinhibition in Vivo by Outcompeting Iron and Causing Decrease in Leaf Chlorophyll. *Plant Physiology* 129: 1359-1367.
- Prasad, M. N. V. (1998) Metal-biomolecule complexes in plants: Occurrence, functions, and applications. *Analisis* 26: 25-28.
- Reichman, S. M. (2002) The Responses of Plants to Metal Toxicity: A review focusing on Copper, Manganese and Zinc. *The Australian Minerals & Energy Environment Foundation* 13: 1-54.
- Sheldon, A. and Menzies, N. W. (2004) The effect of copper toxicity on the growth and morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana*) in solution culture. *Journal of American Science* 8: 1-8.
- Sheokand, S., Kumari, A. and Sawhney, V. (2008) Effect of nitric oxide and putrescine on antioxidative responses under NaCl stress in chickpea plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 14(4): 355-362.
- Sossé, B. A., Genet, P., Dunand, F. V., Toussaint, M. L., Epron, D. and Badot, P. M. (2004) Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science* 166: 1213-1218.
- Tu, J., Shen, W. B. and Xu, L. L. (2003) Regulation of nitric oxide on ageing processes of wheat leaves. *Acta Botanica Sinica* 45: 1057-1061.
- Vassilev, A., Lidon, F., Ramalho, J. C., Doceumatos, M. and Graca, M. (2003) Effects of excess Cu on growth and photosynthesis of

$\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport in the tonoplast. *Planta* 224:  
545-555.



IJPB Pub.

## Interaction of sodium nitroprusside And Copper On Some growth and physiologic Parameters of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.)

\*Mohammad Ali Ra'issi, <sup>1</sup>Zahra Asrar, <sup>2</sup>Shahram Pourseyedi

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

<sup>2</sup> Department of Tillage, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

### Abstract

Copper is a micronutrient which its deficiency can alter essential functions in plant metabolism. On the other hand, excess copper is present in certain regions and environments, and can be potentially toxic to plants causing phytotoxicity by the formation of reactive oxygen species that damage cells. In this study, we examined the effect interactions between various concentrations of sodium nitroprusside (SNP) solution (0, 50, 100, and 200  $\mu\text{M}$ ) and different levels of Cu (50, 100, and 200  $\mu\text{M}$   $\text{CuSO}_4$ ) on the growth and morphology of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.). The results showed that SNP treatment increased roots and shoots fresh weight, as well as the contents of chlorophyll a, b, total chlorophyll and carotenoids in all of the *L. sativum* plants under Cu Toxicity, as compared with the control plants. SNP treatment decreased malondialdehyde and other aldehyde in shoots and roots of the plants treated with copper, as compared with the control plants. In this study, determined that medium concentrations of SNP solution (50 and 100  $\mu\text{M}$ ) had good effects on improvement of physiological effects in plants under Cu toxicity.

**Key words:** excess copper, *Lepidium sativum*, photosynthetic pigments, sodium nitroprusside (SNP)